



Doc. RNDr. Marek Jindra, CSc.
Katedra molekulární biologie
www.entu.cas.cz/jindra
e-mail: jindra@entu.cas.cz
tel.: +420 387 775 232

Posudek na disertační práci

Jany Růžičkové

„Eye evolution and development: an insight from jellyfish and mouse“

Předložená disertační práce vychází z vynikající laboratoře Dr. Zbyňka Kozmika, kde je tema vývoje a evolučního původu oka dlouhodobě velmi úspěšně rozvíjeno. Tato disertační práce sestává ze čtyř publikací, a to v časopisech dobře respektovaných v oblasti vývojové a evoluční biologie (*Int. J. Dev. Biol.*, *Genesis* a *Evol. Dev.* s IF v rozmezí ca 2,5-3,7) a v prestižním časopise PNAS. Všechny publikace nesou výrazný experimentální a také intelektuální podíl doktorandky. Článek v *International Journal of Developmental Biology*, kde je Jana Růžičková první autorkou, je pak kompletně její vlastní prací.

Velmi oceňuji, že každá publikace je uvedena stručným souhrnem, na jehož závěru autorka zcela jasně a konkrétně popisuje svůj příspěvek ke každé publikaci. Na základě toho lze jednoznačně usoudit, že musela zvládnout velkou škálu molekulárních a dalších metod a především intelektuálně obsáhnout problematiku. Autorka zvládla práci s velmi různými experimentálními modely, tj. medusou *Tripedalia* a s klasickým myším modelem, což je také důležité pro její všeobecný přehled. O množství a kvalitě odvedené práce stejně jako o tvůrčím příspěvku autorky k publikacím nelze pochybovat.

Vlastním publikovaným článkům předchází pěkně napsaný literární úvod, který jsem si se zájmem přečetl. Shrnuje relevantní znalosti o vývoji a transkripční regulaci v různých modelech očí. Tento úvod je dostatečně podrobný a účelný, aby usnadnil pochopení následujících publikací, a přitom nijak rozvleklý. Jelikož tento přehled a souhrny k článkům

autorka zjevně napsala sama (o tom svědčí také občasné drobné chybičky nebo neobratnosti v angličtině), lze předpokládat i její schopnost vědeckého psaní. Po formální stránce je práce dobře a účelně uspořádaná a nemám k ní žádné výhrady. Kvalita dat v publikacích byla předmětem náročného recenzního řízení. Proto se omezím na tři komentáře, ke kterým by se mohla autorka vyjádřit.

1. V první publikaci se u medusy *Tripedalia* podařilo zaklonovat gen pro jeden z krystalinů (J2), který nemá jasné homology v jiných organismech. Existuje, kromě vysoké míry exprese J2 v oblasti čočky, ještě jiný důkaz, že J2 je skutečně funkční krystalin? Z literárního přehledu vyplývá, že pro funkci krystalinu mohou být rekrutovány nejrozumnější geny, ale přece jen si lze představit, že tyto proteiny musí mít určité strukturní vlastnosti, které výběr těchto genů omezují. Může autorka spekulovat, co tedy dělá krystalin krystalinem?
2. *Tripedalia* zřejmě není snadná na udržování v laboratoři. Ale přesto, byla u medus testována možnost loss-of-function studií? U příbuzných nezmarů (*Hydra*) lze vyvolat RNAi krmením bakteriemi, produkujícími dsRNA. Bylo by něco podobného možné u medus nebo jejich polypového stadia?
3. PaxB jako ancestrální protein medusy spojuje v sobě strukturní vlastnosti paralogních proteinů Pax2 a Pax6 u drosofil a myši. PaxB může částečně nahradit chybějící funkci Pax2 u mutantních drosofil, nebo podobně jako Pax6 indukovat ektopické oči (Kozmik et al., 2003). V poslední publikaci Ruzickova et al. (*Int. J. Dev. Biol.*) jsou vlastnosti PaxB medusy *Tripedalia* inferovány z gain-of-function přístupu v transgenní myši: cílená misexprese PaxB v oku interferuje s vývojem čočky, duhovky a sítnice, vede k redukci oka. Je potlačena přirozená exprese genu Pax6 a několika genů downstream od Pax6, z čehož vyplývá, že transkripční regulační dráha závislá na Pax6 je ektopickou přítomností PaxB narušena. PaxB může vytěsnit protein Pax6 z enhanceru genu Pax6 a tak narušit auto-aktivaci Pax6.
Jedním z hlavních závěrů článku je, že PaxB nemůže, na rozdíl od drosofil, u myši funkci Pax6 a Pax2 substituovat. Tento závěr však podle mne z výsledků nevyplývá. Zejména pro Pax2 nevidím pro takové tvrzení data. Zatímco u drosofil šlo o rescue mutantního fenotypu Pax2 (gen *D-pax2*, rovněž zvaný *spa* nebo *shaven*), zde se jedná o dominantní efekt proteinu PaxB, který kromě potlačení exprese genu Pax6 zřejmě interferuje také s funkcí endogenních proteinů Pax2, Pax6 a jiných, a tím může způsobit i defekty, které nelze vysvětlit pouze ztrátou exprese Pax6. Navíc ztráta exprese Pax6

po aktivaci PaxB není úplná a nelze ji považovat za loss-of-function situaci ekvivaletní mutaci *D-pax2*, ve které by bylo možné testovat, zda je funkce PaxB k náhradě Pax6 dostatečná nebo ne. Dominantní efekt PaxB může být také způsoben mislokizací, časovou misregulací, a/nebo vysokou dávkou jeho exprese v transgenním systému. Prosím o komentář.

Závěr: Předložená práce reprezentuje úctyhodné množství originálních dat, na jejichž základě vznikly čtyři kvalitní publikace, které zásadně přispívají k pochopení principů evolučně vývojové biologie. Velmi mne těší, že se v takto kompetitivní a experimentálně náročné oblasti výrazně profiluje laboratoř Dr. Kozmika, kterému gratuluji k další skvěle vedené doktorandce. Práci považuji za vynikající a jednoznačně ji doporučuji jako podklad k udělení titulu Ph.D.



Marek Jindra

